

• 论 著 •

circPVT1 对鼻咽癌细胞增殖、转移和凋亡的影响及作用机制研究*

何 雯¹, 杨 森², 王 琦³, 游莉斯⁴

1. 四川省成都市第六人民医院耳鼻喉科, 四川成都 610051; 2. 四川省遂宁市中心医院耳鼻喉科, 四川遂宁 629000; 3. 四川省成都市第六人民医院检验科, 四川成都 610051; 4. 四川省成都市第六人民医院肿瘤科, 四川成都 610051

摘 要:目的 研究环状非编码 RNA 基因 PVT1(circPVT1)在鼻咽癌组织中的表达及对鼻咽癌细胞增殖、转移和凋亡的影响,并探讨其作用机制。**方法** 采用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测 circPVT1 在鼻咽癌组织和鼻窦炎组织(对照组)中的表达,将鼻咽癌细胞系 HNE1 体外培养并分成阴性对照组(转染阴性对照载体)、circPVT1 过表达试验组(转染 circPVT1 mimic)和 circPVT1 干扰试验组(转染 circPVT1 inhibitor)。采用 RT-qPCR 检测 circPVT1 mimic 和 circPVT1 inhibitor 转染效果;采用 MTT 试验分析 circPVT1 对鼻咽癌细胞增殖的影响;采用 Transwell chamber 试验分析 circPVT1 对鼻咽癌细胞转移的影响;流式细胞术分析 circPVT1 对鼻咽癌细胞凋亡的影响;采用 Western blot 分析 circPVT1 对 PTEN-PI3K/AKT 信号通路表达的影响。**结果** 与对照组相比,鼻咽癌组织中 circPVT1 表达明显上调($P<0.05$)。转染 circPVT1 mimic 后, circPVT1 过表达试验组细胞中 circPVT1 的表达增加($P<0.05$),转染 circPVT1 inhibitor 后, circPVT1 干扰试验组细胞中 circPVT1 的表达降低($P<0.05$)。转染 circPVT1 mimic 显著促进鼻咽癌细胞的增殖和转移能力,抑制细胞凋亡,同时降低 PTEN 表达和增加 PI3K/AKT 磷酸化($P<0.05$)。转染 circPVT1 inhibitor 显著抑制鼻咽癌细胞的增殖和转移能力,促进细胞凋亡,同时增加 PTEN 的表达和降低 PI3K/AKT 磷酸化($P<0.05$)。**结论** circPVT1 在鼻咽癌中表达增加,可通过靶向调节 PTEN-PI3K/AKT 信号途径促进鼻咽癌细胞增殖和转移能力,并抑制细胞凋亡,进而参与鼻咽癌的发展, circPVT1 可能是治疗鼻咽癌的潜在新靶点。

关键词:鼻咽癌; 环状非编码 RNA 基因 PVT1; 增殖; 转移; 凋亡; PTEN-PI3K/AKT
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.06.008 **中图法分类号:**R739.63
文章编号:1673-4130(2022)06-0672-07 **文献标志码:**A

Effect and mechanism of circPVT1 on the proliferation, metastasis and apoptosis of nasopharyngeal carcinoma cells*

HE Wen¹, YANG Sen², WANG Qi³, YOU Lisi⁴

1. Department of Otorhinolaryngology, Chengdu Sixth People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610051, China; 2. Department of Otorhinolaryngology, Suining Central Hospital, Suining, Sichuan 629000, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Chengdu Sixth People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610051, China; 4. Department of Oncology, Chengdu Sixth People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610051, China

Abstract: Objective To study the expression of circular non-coding RNA gene PVT1 (circPVT1) in nasopharyngeal carcinoma tissues and its effect on the proliferation, metastasis and apoptosis of nasopharyngeal carcinoma cells, and to explore its mechanism of action. **Methods** Real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR) was used to detect the expression of circPVT1 in nasopharyngeal carcinoma tissues and sinusitis tissue (control group). The nasopharyngeal carcinoma cell line HNE1 was cultured in vitro and divided into control groups (transfected with negative control vector), circPVT1 overexpression experimental group (transfected with circPVT1 mimics) and circPVT1 interference experimental group (transfected with circPVT1 inhibitor). RT-qPCR was used to detect the transfection effect of circPVT1 mimics and circPVT1 in-

* 基金项目:四川省卫生健康委员会科研课题(19PJ166)。
作者简介:何雯,女,主治医师,主要从事耳鼻喉常见病及其肿瘤方面的研究。
本文引用格式:何雯,杨森,王琦,等. circPVT1 对鼻咽癌细胞增殖、转移和凋亡的影响及作用机制研究[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43 (6):672-677.

hibitor. MTT experiment was used to analyze the effect of circPVT1 on the proliferation of nasopharyngeal carcinoma cells. Transwell chamber experiment was used to analyze the effect of circPVT1 on the metastasis of nasopharyngeal carcinoma cells. Flow cytometry was used to analyze the effect on the apoptosis of circPVT1 on nasopharyngeal carcinoma. The influence of circPVT1 on the expression of PTEN-PI3K/AKT signal pathway was analyzed by Western blot. **Results** Compared with control group, the expression of circPVT1 in nasopharyngeal carcinoma tissues was significantly up-regulated ($P < 0.05$). After transfection of circPVT1 mimic, the expression of circPVT1 in the cells of the circPVT1 overexpression experimental group were increased ($P < 0.05$). After transfection of circPVT1 inhibitor, the expression of circPVT1 in the cells of the circPVT1 interference experimental group were decreased ($P < 0.05$). Transfection of circPVT1 mimic significantly promoted the proliferation and metastasis of nasopharyngeal carcinoma cells, inhibited cell apoptosis, reduced PTEN expression and increased PI3K/AKT phosphorylation ($P < 0.05$). Transfection with circPVT1 inhibitor significantly inhibited the proliferation and metastasis of nasopharyngeal carcinoma cells, promoted cell apoptosis, increased PTEN expression and decreased PI3K/AKT phosphorylation ($P < 0.05$). **Conclusion** The increased expression of circPVT1 in nasopharyngeal carcinoma can promote the proliferation and metastasis of nasopharyngeal carcinoma cells and inhibit cell apoptosis, thereby participating in the development of nasopharyngeal carcinoma through targeted regulation of the PTEN-PI3K/AKT signaling pathway. CircPVT1 may be potential new targets for the treatment of nasopharyngeal carcinoma.

Key words: nasopharyngeal carcinoma; circular non-coding RNA gene PVT1; proliferation; metastasis; apoptosis; PTEN-PI3K/AKT

鼻咽癌(NPC)是指发生于鼻咽腔顶部和侧壁的恶性肿瘤,发病率为耳鼻咽喉恶性肿瘤之首^[1]。该病涉及一系列的遗传变化,如原癌基因的激活和肿瘤抑制基因的失活,这些变化会扰乱体内的生理平衡,导致异常的细胞增殖,从而促进肿瘤的发生和发展^[2-3]。由于鼻咽癌缺乏个体化的治疗方法和治疗药物,目前仍以放疗为主^[4]。大多数鼻咽癌病患者发现时已经处于晚期,治疗效果不佳,5 年生存率较低^[5]。因此研究鼻咽癌恶性发展的分子机制,对提高鼻咽癌患者的治疗效果和改善预后具有重要意义。环状非编码 RNA 基因 PVT1(circPVT1)为一种新的环状 RNA,在人类癌症如肺癌和前列腺癌中的表达高于邻近的正常组织,已有研究发现其具有许多与癌症进展相关的功能,包括细胞存活和迁移^[6-7]。circPVT1 可能是肿瘤治疗的潜在靶点,然而其在鼻咽癌中的功能与作用机制报道较少。本研究主要探讨 circPVT1 对鼻咽癌细胞增殖和转移的影响及作用机制,旨在为临床预防和治疗鼻咽癌提供新的思路和方法。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 1 月至 2021 年 1 月于成都市第六人民医院耳鼻喉科治疗的临床鳞状细胞鼻咽癌患者的活检组织标本 31 例为研究对象。纳入标准:(1)患者活检前未经受过任何治疗;(2)活检组织经病理证实为鼻咽癌;(3)患者未患有其他类型的肿瘤。选取慢性鼻窦炎患者活检组织 31 例作为对照组。所有患者均签署知情同意书,本研究由成都市第六人民医院批准审核通过。

1.2 试剂与仪器 鼻咽癌细胞系 HNE1 购于德国 DSMZ 细胞库;二甲基噻唑-二苯基溴化四唑(MTT)购自美国 Gibco 公司;DMEM 培养液、胎牛血清(FBS)购自美国 HyClone 公司;聚偏二氟乙烯膜(PVDF)膜购自美国 Pall Life Sciences 公司;Western blot 相关化学试剂购自上海碧云天生物科技有限公司;增强化学发光(ECL)试剂购自英国 Abcam 公司;兔抗大鼠 circPVT1 单克隆抗体、小鼠抗大鼠 p-AKT 单克隆抗体、小鼠抗大鼠 p-PI3K 单克隆抗体、兔抗大鼠 PTEN 单克隆抗体、兔抗大鼠 AKT 单克隆抗体、小鼠抗大鼠 PI3K 单克隆抗体、小鼠抗大鼠 β -actin 单克隆抗体和 HRP 标记的兔抗小鼠 IgG 和 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 购自英国 Abcam 公司;Transwell Chamber 购自美国 Corning 公司;RNA 提取试剂盒、逆转录试剂盒和 lipo2000 试剂购自美国 Invitrogen 公司;circPVT1 mimic 和 circPVT1 inhibitor 由上海吉马制药科技有限公司合成;超净工作台购自苏州太素净化设备工程有限公司;细胞培养箱购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

1.3 方法

1.3.1 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测 circPVT1 的表达 使用 TRIzol 试剂提取总 RNA,并根据试剂盒说明书进行 DNA 逆转录合成。引物由 Primer Premier 6.0 根据各基因序列设计,由上海鹰君生物技术有限公司合成。反应条件如下:95 °C 预变性 60 s,92 °C 变性 30 s,58 °C 退火 45 s,72 °C 延伸 35 s,共 35 个循环。甘油醛 3-磷酸脱氢酶(GAPDH)

作为参照。根据荧光定量计算所有样品和标准品的起始循环数。基于标准 CT 值,绘制标准曲线,然后使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法进行半定量分析。circPVT1 引物 F:5'-GGT TCC ACC AG CGT TAT TC-3'; R:5'-CAA CTT CCT TTG GGT CTC C-3'。内参 GAPDH 引物 F:5'-CCA GGT GGT CTC CTC TGA-3'; R:5'-GCT GTA GCC AAA TCG TTG T-3'。试验重复 3 次。

1.3.2 HNE1 细胞培养和分组 将储存在液氮中的鼻咽癌细胞系 HNE1 放置于 37 °C 水浴中解冻。细胞完全解冻后,以 1 000 r/min 离心 3 min,转移到含有新鲜 DMEM 培养基的细胞培养皿中,在 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养 48 h。当细胞融合度为 95% 左右时,以 1×10^6 个/孔接种于 6 孔板中。培养的 HNE1 细胞随机分为 3 组:阴性对照组、circPVT1 过表达试验组和 circPVT1 干扰试验组。

1.3.3 circPVT1 mimic 和 circPVT1 inhibitor 转染 按照上述步骤培养阴性对照组、circPVT1 过表达试验组和 circPVT1 干扰试验组 HNE1 细胞,当细胞接种 12 h 融合度达到 70%~80% 时,将 circPVT1 mimic、circPVT1 inhibitor 和阴性对照组细胞分别加入到 200 μ L 无血清的 DMEM 培养基中,充分混合,室温下孵育 15 min。lip2000 分别与 circPVT1 mimics、circPVT1 inhibitor、阴性对照组细胞稀释液充分混合,室温下孵育 30 min。PBS 冲洗各组细胞,除去细胞中的血清,分别加入 1.6 mL 无血清 DMEM 培养基及各组转染试剂,放置在 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。6 h 后更换一次培养液,并进一步继续培养 48 h。采用 RT-qPCR 检测 circPVT1 mimic 和 circPVT1 inhibitor 转染效果。试验重复 3 次。

1.3.4 MTT 法检测细胞增殖能力 将 HNE1 细胞从含有 10% PBS 的 DMEM 培养基吸出,以 5×10^3 个/孔接种于 96 孔板中,培养 24 h 后弃去上清液。每组细胞间隔 24 h 处理一次,然后每组加入 20 μ L 无菌 MTT。在每个时间点设置 3 个复制孔。连续培养 4 h 后,完全除去上清液,以每孔 150 μ L 加入 DMSO 孵育 10 min。当晶体完全溶解时,在 570 nm 的波长下测量吸光度值(A_{570})以反映细胞增殖情况。试验重复 3 次。

1.3.5 Transwell Chamber 检测细胞侵袭能力 circPVT1 mimics 和 circPVT1 inhibitor 转染到 HNE1 细胞 48 h 后,吸出培养液,向每个孔中加入 50 μ L 含 10 g/L BSA 的无血清培养基,37 °C 孵育 30 min。随后将 Transwell 小室置于 24 孔板中,500 μ L 含 10% FBS 的 DMEM 培养基加入到小室中,100 μ L HNE1 细胞悬液加入到小室中,并在无血清 DMEM 培养基中培养。细胞培养 48 h 后取出 Transwell 小室,用 PBS 冲洗,棉签擦去微孔膜上层的细胞,固定在冰乙

醇中 30 min。转移到微孔膜下层的细胞在倒置显微镜下计数。对每个样品计数 10 个视野,最后计算平均值。试验重复 3 次。

1.3.6 流式细胞术分析细胞凋亡 circPVT1 mimic 和 circPVT1 inhibitor 转染处理 48 h 后,常规消化计数后收集 HNE1 细胞,固定于 75% 乙醇中,4 °C 过夜。次日,PBS 洗涤后,将细胞悬置于 800 μ L $1 \times$ PBS 和 1% BSA 的混合溶液中,随后加入 100 μ g/mL PI 溶液 (3.8% 枸橼酸钠,pH=7.0) 和 100 RNase (RNase, 10 mg/mL),在 37 °C 避光室下孵育 30 min,然后用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。试验重复 3 次。

1.3.7 Western blot 检测鼻咽癌细胞中 PTEN-P13K/AKT 信号通路相关蛋白的表达 提取各组的总蛋白后加入裂解液,冰上裂解 15~30 min,4 °C 10 000 r/min 离心机下离心 15 min 后吸取上清液,BCA 法测蛋白浓度。分离的蛋白质在 10% SDS-PAGE 上电泳后,转移到 PVDF 膜上,5% 脱脂奶粉封闭 2 h,封闭完成后,分别用兔抗大鼠 circPVT1 单克隆抗体 (1:500)、小鼠抗大鼠 p-AKT 单克隆抗体 (1:800)、小鼠抗大鼠 p-PI3K 单克隆抗体 (1:800)、兔抗大鼠 PTEN 单克隆抗体 (1:800)、兔抗大鼠 AKT 单克隆抗体 (1:800)、小鼠抗大鼠 PI3K 单克隆抗体 (1:800) 和小鼠抗大鼠 GAPDH 单克隆抗体 (1:1 000),4 °C 孵育过夜。次日,洗涤后,分别加入 HRP 标记的兔抗小鼠 IgG (1:2 000) 或 HRP 标记的山羊抗兔 IgG (1:2 000),37 °C 孵育 1.5 h。用 Leagene ECL 发光液于暗室内对 Western blot 条带进行发光显影,使用蛋白质图像处理系统软件和 Quantity one 软件分别扫描 X 光胶片和条带密度测量值。试验重复 3 次。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件对数据进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,3 组间比较采用方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 circPVT1 在鼻咽癌组织中的表达 采用 RT-qPCR 检测 circPVT1 在慢性鼻窦炎组织和鼻咽癌组织中的表达,结果显示,与对照组 (0.46 ± 0.05) 相比, circPVT1 在鼻咽癌组织 (1.24 ± 0.22) 中表达显著增加 ($t = 6.10, P = 0.004$)。

2.2 RT-qPCR 检测 circPVT1 mimic 和 circPVT1 inhibitor 转染效果 采用 RT-qPCR 检测转染 circPVT1 mimic 和 circPVT1 inhibitor 对鼻咽癌细胞 HNE1 中 circPVT1 表达的影响。结果显示,与阴性对照组 (0.68 ± 0.18) 相比, circPVT1 过表达试验组中 circPVT1 的表达 (1.55 ± 0.26) 显著增加 ($t = 4.765, P = 0.005$); 与阴性对照组相比, circPVT1 干

扰试验组中 circPVT1 的表达(0.21 ± 0.16)显著降低($t=3.38, P=0.020$)。

2.3 circPVT1 对鼻咽癌细胞增殖能力的影响 采用 MTT 法检测 circPVT1 对鼻咽癌细胞增殖能力的影响,结果显示,与阴性对照组(112.67 ± 2.78)相比, circPVT1 过表达试验组 HNE1 细胞的 A_{570} 值(178.35 ± 5.62)显著增加($t=18.14, P<0.001$), circPVT1 干扰试验组 HNE1 细胞的 A_{570} 值(42.23 ± 3.45)显著降低($t=27.54, P<0.001$)。

2.4 circPVT1 对鼻咽癌细胞转移能力的影响 采用 Transwell Chamber 试验检测 circPVT1 对鼻咽癌细胞转移能力的影响,结果显示,与阴性对照组 [(175.67 ± 11.38) 个]相比, circPVT1 过表达试验组 HNE1 细胞的转移细胞数 [(256.33 ± 18.62) 个]显著增加($t=6.40, P=0.001$), circPVT1 干扰试验组 HNE1 细胞的转移细胞数 [(56.33 ± 13.24) 个]显著

降低($t=11.84, P<0.001$),见图 1。

2.5 circPVT1 对鼻咽癌细胞凋亡的影响 采用流式细胞术检测 circPVT1 对鼻咽癌细胞凋亡的影响,结果显示,与阴性对照组($13.32\% \pm 4.35\%$)相比, circPVT1 过表达试验组 HNE1 细胞的凋亡率($6.24\% \pm 2.57\%$)显著降低($t=2.65, P=0.045$), circPVT1 干扰试验组 HNE1 细胞的凋亡率($28.65\% \pm 5.23\%$)显著增加($t=3.90, P=0.011$),见图 2。

2.6 circPVT1 对 PTEN-PI3K/AKT 信号通路的影响 采用 Western blot 检测 circPVT1 对鼻咽癌细胞 PTEN-PI3K/AKT 信号通路的影响,结果显示,与阴性对照组相比, circPVT1 过表达试验组 HNE1 细胞中 PTEN 蛋白表达显著降低、p-PI3K、p-AKT 表达显著增加($P<0.05$)。 circPVT1 干扰试验组 HNE1 细胞中 PTEN 的表达显著增加, p-PI3K、p-AKT 的表达显著降低($P<0.05$),见图 3 和表 1。

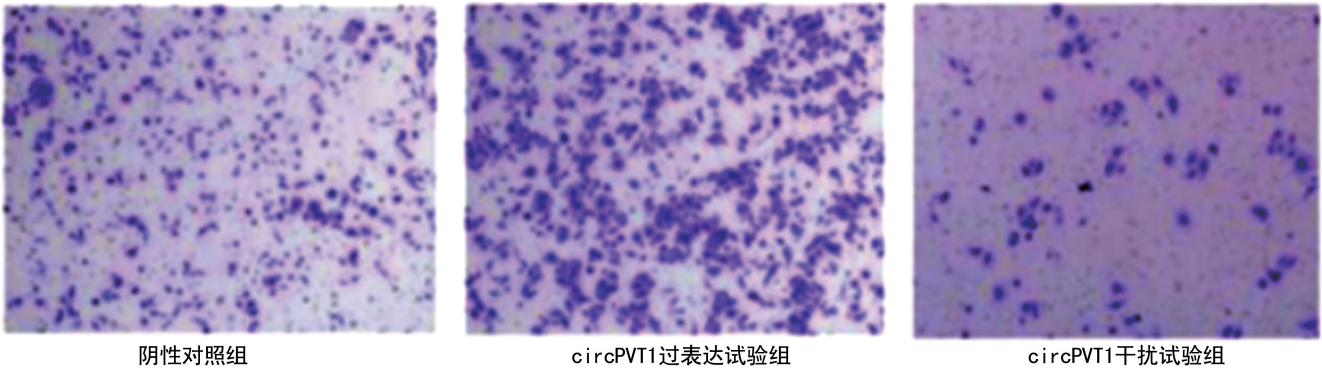


图1 Transwell Chamber 试验分析 circPVT1 对鼻咽癌细胞转移能力的影响

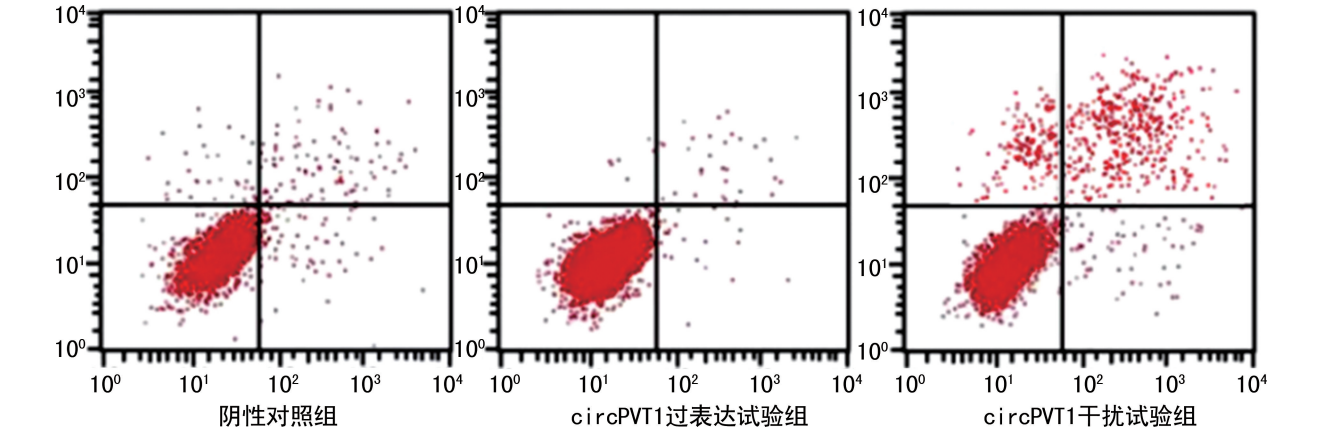


图2 流式细胞术分析 circPVT1 对鼻咽癌细胞凋亡的影响

表1 各组细胞中 PTEN-PI3K/AKT 信号通路相关蛋白的相对表达量

组别	PTEN	p-AKT	AKT	p-PI3K	PI3K
阴性对照组	1.06±0.09	2.35±0.14	2.04±0.11	1.96±0.12	2.27±0.21
circPVT1 过表达试验组	0.43±0.03	3.26±0.31	1.89±0.17	2.83±0.23	2.15±0.19
circPVT1 干扰试验组	2.96±0.12	0.92±0.09	1.87±0.20	0.63±0.16	1.89±0.24
F	667.167	101.154	0.959	118.931	2.464
P	<0.001	<0.001	0.435	<0.001	0.166

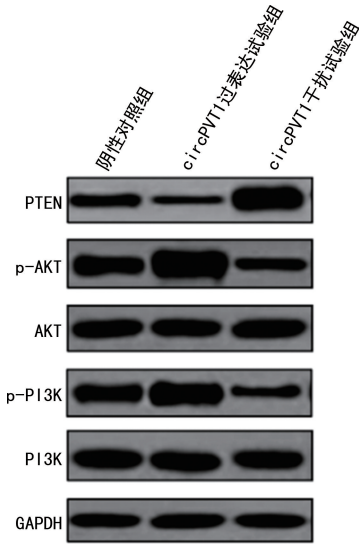


图 3 Western blot 检测 circPVT1 对 PTEN-PI3K/AKT 信号通路的影响

3 讨 论

鼻咽癌是一种独特的Ⅱ型头颈部恶性肿瘤,具有明显的地理和种族分布特征,特别是在东南亚和中国南方,发病率较高^[8]。该病发病部位深且隐蔽,早期进展缓慢,常导致误诊,增加了临床治疗难度^[9]。大多数鼻咽癌患者在晚期被诊断,且多数鼻咽癌是分化较差的未角化鳞状细胞癌,恶性程度高,浸润能力强,易转移^[10]。尽管原发肿瘤在放疗(IMRT)及放化疗结合治疗下得到短期控制,但仍存在局部复发和远处转移等问题^[11]。鼻咽癌的确切发病机制至今尚未阐明。因此,筛选和鉴定有效的分子标志物对鼻咽癌早期诊断和干预具有重要意义。

circRNA 为一种新发现的非编码 RNA,在 3' 和 5' 末端通过共价键形成闭环的过程中产生^[11]。由于这种封闭的结构, circRNA 具有较强的稳定性,对 RNA 降解途径具有高度抗性,表明与线性非编码 RNA 相比, circRNA 可以更有效地对疾病进行诊断^[12]。越来越多的研究表明, circRNA 可以作为诊断和治疗疾病的分子标志物,特别是在肿瘤的发生和发展中起作用^[13-14], 如 circPIP5K1A 敲低可通过调节 miR-101/ABCC1 轴抑制非小细胞肺癌的进展并提高顺铂敏感性^[15]。 circABC10 在乳腺癌组织和细胞中上调,通过靶向调节 miR-1271 促进乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭^[16]。 circPVT1 来自 lncRNA-PVT1 的第 3 个外显子,位于已知的癌症易感性区域 chr 8: 128902834-128903244 中,被鉴定为许多类型癌症的候选癌基因,包括头颈鳞状细胞癌和白血病^[17-18]。既往研究表明,在非小细胞肺癌中 circPVT1 表达上调,可能是一个潜在的预后标志物^[19]。在乳腺癌组织和细胞系中 circPVT1 高表达,可通过调节 miR-29a-3p 介导的 AGR2-HIF-1 α 轴促进乳腺癌细胞生长、侵袭、迁移并抑制细胞凋亡,从而成为乳腺癌中的致癌基

因^[20]。 circPVT1 为多种肿瘤治疗的潜在分子靶点,但是在鼻咽癌中的作用尚不清楚,本研究首先采用 RT-qPCR 检测鼻咽癌组织中 circPVT1 的表达水平,结果显示,与对照组相比,鼻咽癌组织中 circPVT1 表达明显增加,提示 circPVT1 在鼻咽癌中可能发挥癌基因作用,但是本研究收集样本较少,未对 circPVT1 鼻咽癌患者中表达的临床意义进行分析,后续需要进一步扩大样本量进行验证及深入分析。研究显示,在非小细胞肺癌和乳腺癌等常见恶性肿瘤中 circPVT1 促进肿瘤细胞的增殖和转移能力^[19-20],本研究也显示,干扰 circPVT1 的表达显著抑制鼻咽癌细胞的增殖和转移能力,过表达 circPVT1 显著增强了鼻咽癌细胞的增殖和转移能力,表明 circPVT1 的表达促进鼻咽癌细胞的恶性进展,发挥促癌作用。

关于 circPVT1 促进鼻咽癌细胞增殖和转移的作用机制研究显示, circPVT1 可以抑制 Bax、p53 和 Daxx 等促凋亡蛋白的表达,并激活 Caspase 级联反应,抑制细胞凋亡从而促进肿瘤细胞生长^[20-22]。 PTEN 是一种抑癌因子,属于负调控细胞增殖的基因^[23-24], PTEN 是乳腺癌和胰腺癌等癌症的肿瘤抑制因子,可以通过拮抗磷酸化酶如酪氨酸激酶的活性来抑制肿瘤的发展^[25-26]。 PTEN 可作为分子靶点抑制鼻咽癌细胞的恶性进展^[27]。本研究采用 Western blot 检测发现,干扰 circPVT1 的表达促进鼻咽癌细胞 PTEN 蛋白的表达,过表达 circPVT1 抑制鼻咽癌细胞 PTEN 蛋白的表达。 PTEN 负向调节 PI3K/AKT 信号通路是其发挥肿瘤抑制因子作用的重要机制^[28], PI3K/AKT 信号通路与肿瘤发生密切相关,其激活可导致肿瘤细胞增殖、疾病进展。有研究已经证实鼻咽癌的进展与 PI3K/AKT 信号通路有关^[29], YAO 等^[28]报道在鼻咽癌细胞 HK-1 中干扰 PTEN 的表达,可通过激活 PI3K/AKT 信号通路促进鼻咽癌细胞的发生发展, PTEN-PI3K/AKT 信号轴可作为抗鼻咽癌治疗的靶点。本研究发现上调鼻咽癌 HNE1 细胞中 circPVT1 的表达导致 p-PI3K、p-AKT 表达增加;抑制 HNE1 细胞中 circPVT1 的表达导致 p-PI3K、p-AKT 表达降低。

综上所述, circPVT1 在鼻咽癌组织中上调,促进了鼻咽癌细胞的增殖和转移能力,抑制细胞凋亡,可能是通过靶向调节 PTEN-PI3K/AKT 信号途径实现的。因此, circPVT1 可能成为鼻咽癌诊断和治疗的分子靶点。

参考文献

[1] NG W, CORRY J, LANGENDIJK J A, et al. Current management of stage IV nasopharyngeal carcinoma without distant metastasis[J]. Cancer Treat Rev, 2020, 85: 101995.
[2] PENG H, DONG D, FANG M J, et al. Prognostic value of

- deep learning pet/ct-based radiomics; potential role for future individual induction chemotherapy in advanced nasopharyngeal carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2019, 25(14):4721-4279.
- [3] MENG D F, XIE P, PENG L X, et al. CDC42-interacting protein 4 promotes metastasis of nasopharyngeal carcinoma by mediating invadopodia formation and activating EGFR signaling[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2017, 36(1):21.
- [4] WANG L Q, DENG A C, ZHAO L, et al. Mir-1178-3p promotes the proliferation, migration and invasion of nasopharyngeal carcinoma sune-1 cells by targeting STK4[J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2019, 33(2):321-330.
- [5] MAO L, TAN J, WANG F, et al. Retrospective study comparing anti-EGFR monoclonal antibody plus cisplatin-based chemoradiotherapy versus chemoradiotherapy alone for stage II-IV nasopharyngeal carcinoma and prognostic value of EGFR and VEGF expression[J]. Clin Otolaryngol, 2019, 44(4):572-580.
- [6] VERDUCI L, FERRAIUOLO M, SACCONI A, et al. The oncogenic role of circPVT1 in head and neck squamous cell carcinoma is mediated through the mutant p53/YAP/TEAD transcription competent complex[J]. Genome Biol, 2017, 18(1):237.
- [7] ZENG C, YU X, LAI J, et al. Overexpression of the long non-coding RNA PVT1 is correlated with leukemic cell proliferation in acute promyelocytic leukemia[J]. J Hematol Oncol, 2015, 8(1):126.
- [8] WANG Y H, YIN Y W, ZHOU H, et al. Mir-639 is associated with advanced cancer stages and promotes proliferation and migration of nasopharyngeal carcinoma[J]. Oncol Lett, 2018, 16(6):6903-6909.
- [9] YIU S P T, HUI K F, CHOI C K, et al. Intracellular iron chelation by a novel compound, C7 reactivates Epstein-barr virus (EBV) lytic cycle via the ERK-autophagy axis in EBV-positive epithelial cancers[J]. Cancers (Basel), 2018, 10(12):505.
- [10] ZHOU J, ZHANG J, XU M, et al. High SRC-1 and Twist1 expression predicts poor prognosis and promotes migration and invasion by inducing epithelial-mesenchymal transition in human nasopharyngeal carcinoma[J]. PLoS One, 2019, 14(4):e0215299.
- [11] GUAN S, WEI J, HUANG L K, et al. Chemotherapy and chemo-resistance in nasopharyngeal carcinoma[J]. Eur J Med Chem, 2020, 207:112758.
- [12] LIU Y P, WAN, LONG F, et al. circPVT1 Facilitates Invasion and Metastasis by Regulating miR-205-5p/c-FLIP Axis in Osteosarcom[J]. Cancer Manag Res, 2020, 12:1229-1240.
- [13] LI Y, SHI H, YUAN J, et al. Downregulation of circular RNA circPVT1 restricts cell growth of hepatocellular carcinoma through downregulation of Sirtuin 7 via microRNA-3666[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2020, 47(7):1291-1300.
- [14] CHEN S, DING J, WANG Y, et al. RNA-Seq Profiling of Circular RNAs and the Oncogenic Role of circPVT1 in Cutaneous Squamous Cell Carcinoma[J]. Onco Targets Ther, 2020, 13:6777-6788.
- [15] ZHANG Q, ZHANG C, MA J X, et al. Circular RNA PIP5K1A promotes colon cancer development through inhibiting miR-1273a[J]. World J Gastroenterol, 2019, 25(35):5300-5309.
- [16] MA H, TIAN T, LIU X, et al. Upregulated circ_0005576 facilitates cervical cancer progression via the miR-153/KIF20A axis[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 118:109311.
- [17] VERDUCI L, FERRAIUOLO M, SACCONI A, et al. The oncogenic role of circPVT1 in head and neck squamous cell carcinoma is mediated through the mutant p53/YAP/TEAD transcription competent complex[J]. Genome Biol, 2017, 18(1):237.
- [18] ZENG C, YU X, LAI J, et al. Overexpression of the long non-coding RNA PVT1 is correlated with leukemic cell proliferation in acute promyelocytic leukemia[J]. J Hematol Oncol, 2015, 8(1):126.
- [19] OLIVERO C E, MARTÍNEZ-TERROBA E, ZIMMER J, et al. p53 Activates the Long Noncoding RNA Pvt1b to Inhibit Myc and Suppress Tumorigenesis[J]. Mol Cell, 2020, 77(4):761-774.
- [20] WANG J, HUANG K, SHI L, et al. CircPVT1 Promoted the Progression of Breast Cancer by Regulating MiR-29a-3p-Mediated AGR2-HIF-1 α Pathway[J]. Cancer Manag Res, 2020, 12:11477-11490.
- [21] BARSOTTI A M, BECKERMAN R, LAPTENKO O, et al. p53-dependent Induction of PVT1 and miR-1204[J]. J Biol Chem, 2012, 287(4):2509-2519.
- [22] WANG Y, LI Z, XU S, et al. Novel potential tumor biomarkers: Circular RNAs and exosomal circular RNAs in gastrointestinal malignancies[J]. J Clin Lab Anal, 2020, 34(7):e23359.
- [23] ADHIKARY J, CHAKRABORTY S, DALAL S, et al. Circular PVT1: an oncogenic non-coding RNA with emerging clinical importance[J]. J Clin Pathol, 2019, 72(8):513-519.
- [24] CHEN C, CHEN J, HE L, et al. PTEN: Tumor Suppressor and Metabolic Regulator[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2018, 9:338.
- [25] JAVA D, DEEVI R, EVERGREN E, et al. PTEN controls glandular morphogenesis through a juxtamembrane beta-arrestin1/ARHGAP21 scaffolding complex[J]. Elife, 2017, 6:e24578.
- [26] DONG P, HAO F, DAI S, et al. Combination therapy Eve and Pac to induce apoptosis in cervical cancer cells by targeting PI3K/AKT/mTOR pathways[J]. J Recept Signal Transduct Res, 2018, 38(1):83-88. (下转第 682 页)

时 IL-2 水平降低预示更高的带状疱疹病毒感染风险,对临床更有指导意义。

综上所述,含硼替佐米方案治疗 MM 所致带状疱疹病毒感染患者血清 IL-10、TNF- α 水平升高,IL-2 水平降低,高水平 IL-10、TNF- α ,低水平 IL-2 是含硼替佐米方案治疗 MM 所致带状疱疹病毒感染的危险因素,这 3 项指标可用于带状疱疹病毒感染的诊断。

参考文献

[1] KAZANDJIAN D. Multiple myeloma epidemiology and survival;a unique malignancy[J]. *Semin Oncol*,2016,43(6):676-681.

[2] CENGIZ SEVAL G,BEKSAC M. The safety of bortezomib for the treatment of multiple myeloma[J]. *Expert Opin Drug Saf*,2018,17(9):953-962.

[3] KIM S J,KIM K,KIM B S,et al. Bortezomib and the increased incidence of herpes zoster in patients with multiple myeloma[J]. *Clin Lymphoma Myeloma*,2008,8(4):237-240.

[4] EHRENSTEIN B. Diagnosis, treatment and prophylaxis of herpes zoster[J]. *Z Rheumatol*,2020,79(10):1009-1017.

[5] 史海军,崔志强. 带状疱疹急性期患者血清炎性因子、免疫球蛋白含量与后遗神经痛的相关性[J]. *海南医学院学报*,2017,23(1):89-92.

[6] 中国医师协会血液科医师分会,中华医学会血液学分会,中国医师协会多发性骨髓瘤专业委员会. 中国多发性骨髓瘤诊治指南(2015 年修订)[J]. *中华内科杂志*,2015,54(12):1066-1070.

[7] 张学军,陆洪光,高兴华,等. *皮肤性病学*[M]. 8 版. 北京:人民卫生出版社,2013:65-67.

[8] YI Y S,CHUNG J S,SONG M K,et al. The risk factors for herpes zoster in bortezomib treatment in patients with multiple myeloma[J]. *Korean J Hematol*,2010,45(3):188-192.

[9] ROBAK P,ROBAK T. Bortezomib for the Treatment of Hematologic Malignancies;15 Years Later[J]. *Drugs RD*,2019,19(2):73-92.

[10] CHANAN-KHAN A,SONNEVELD P,SCHUSTER M W,et al. Analysis of herpes zoster events among borte-

zomib-treated patients in the phase III APEX study[J]. *J Clin Oncol*,2008,26(29):4784-4790.

[11] NENCIONI A,GARUTI A,SCHWARZENBERG K,et al. Proteasome inhibitor-induced apoptosis in human monocyte-derived dendritic cells[J]. *Eur J Immunol*,2006,36(3):681-689.

[12] ABBAS A K,TROTTA E,DIMITRE R S,et al. Revisiting IL-2:biology and therapeutic prospects[J]. *Sci Immunol*,2018,3(25):1482.

[13] SARAIVA M,VIEIRA P,O' GARRA A. Biology and therapeutic potential of interleukin-10[J]. *J Exp Med*,2020,217(1):e20190418.

[14] BALZANO T,ARENAS Y M,DADSETAN S,et al. Sustained hyperammonemia induces TNF- α in Purkinje neurons by activating the TNFR1-NF- κ B pathway[J]. *J Neuroinflammation*,2020,17(1):70.

[15] 张忠奎,骆利清,冯小青,等. 高原地区带状疱疹患者血清 IL-2,sIL-2R 和 IL-6 水平的研究[J]. *成都军区医院学报*,2003,5(4):1-2.

[16] 许洁,许纲. 带状疱疹后遗神经痛与 Th1/Th2 细胞因子及血清炎性因子相关性探讨[J]. *标记免疫分析与临床*,2017,24(6):666-669.

[17] ZHANG M,WU N,YANG L,et al. Study on the T-helper cell 1/2 cytokine profile in blister fluid of patients with herpes zoster and its clinical significance[J]. *J Dermatol*,2011,38(12):1158-1162.

[18] 陈付强,常敏,王风华,等. 老年带状疱疹后神经痛与白介素和 TNF- α 水平的相关研究[J]. *中国疼痛医学杂志*,2016,22(8):603-606.

[19] HEIDER U,RADEMACHER J,KAISER M,et al. Decrease in CD4⁺ T-cell counts in patients with multiple myeloma treated with bortezomib[J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*,2010,10(2):134-137.

[20] MATSUSHIMA A,KAISHO T,RENNERT P D,et al. Essential role of nuclear factor (NF)- κ B-inducing kinase and inhibitor of κ B (IkappaB) kinase alpha in NF- κ B activation through lymphotoxin beta receptor,but not through tumor necrosis factor receptor I[J]. *J Exp Med*,2001,193(5):631-636.

(收稿日期:2021-08-20 修回日期:2021-12-28)

(上接第 677 页)

[27] LIN J J,FAN J J,GE X J,et al. PAG1 stimulates proliferation and metastasis of nasopharyngeal carcinoma through downregulating PTEN[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*,2020,24(21):11096-11104.

[28] YAO L Z,ZHU Y L,LIU J J. Inhibition of PTEN Gene Expression by Small Interfering RNA on PI3K/Akt/FoxO3a Signaling Pathway in Human Nasopharyngeal

Carcinoma[J]. *Technol Cancer Res Treat*,2020,19:1533033820917959.

[29] CAO L,QIAO J,HUANG H,et al. PI3K-AKT Signaling Activation and Icariin:The Potential Effects on the Perimenopausal Depression-Like Rat Model[J]. *Molecules*,2019,24(20):3700.

(收稿日期:2021-09-10 修回日期:2021-11-28)